

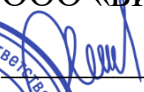


УТВЕРЖДАЮ

Директор

ООО «БИОЛИНК»



 Корниенко А.А.

«2» февраля 2026 г.

Набор реагентов для выделения
внеклеточной ДНК из плазмы крови

"Plasma DNA Extraction"

по ТУ 20.59.52-005-57201404-2021

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Содержание

Введение	2
1 Назначение набора	2
2 Характеристика набора	2
2.1 Варианты исполнения	2
2.2 Комплектность	3
2.3 Состав набора реагентов	3
2.4 Количество выделений	3
2.5 Принцип действия набора	3
3 Функциональные характеристики	4
3.1 Чистота выделенной вкДНК	4
3.2 Эффективность выделения вкДНК	4
3.3 Влияние интерферирующих веществ на выделение вкДНК	4
3.4 Ограничения при применении	4
4 Риски, связанные с применением набора реагентов	5
5 Меры предосторожности	5
6 Оборудование и материалы	7
6.1 Оборудование, необходимое для работы с набором реагентов	7
6.2 Материалы, необходимые для работы с набором реагентов	7
7 Подготовка образцов биоматериала	8
8 Протокол выделения вкДНК из плазмы крови	9
9 Условия хранения, транспортирования и эксплуатации	10
9.1 Условия хранения	10
9.2 Условия транспортирования	10
9.3 Условия эксплуатации	11
9.4 Условия утилизации	11
10 Гарантийные обязательства	11
10.1 Гарантии производителя	11
10.2 Рекламации	11
11 Маркировка	12
Приложение А (рекомендуемое) Схема выделения вкДНК	13
Библиография	14

Введение

Плазма крови содержит внеклеточную ДНК (вкДНК), которая попадает в кровоток из разрушенных клеток. Основная часть вкДНК представлена фрагментами длиной около 150-200 пар оснований. ВкДНК присутствует в плазме в низкой концентрации на фоне многократного избытка белков плазмы.

Жидкостная биопсия – метод неинвазивной диагностики, основанный на исследовании фрагментов вкДНК в плазме крови пациента. Анализ вкДНК применяют, в частности, для выявления соматических мутаций в различных видах опухолей с целью диагностики, прогнозирования и лечения [1, 2].

Показания и противопоказания к применению

Показания: набор реагентов рекомендуется к применению на этапе пробоподготовки для получения вкДНК. Противопоказания: при применении по назначению специально обученным персоналом противопоказания отсутствуют.

1 Назначение набора

Набор реагентов предназначен для выделения внеклеточной ДНК из плазмы крови человека. Функциональное назначение – вспомогательное средство на преаналитическом этапе лабораторных исследований (этапе пробоподготовки), а именно набор реагентов для получения препарата вкДНК человека. Полученная вкДНК может быть использована для последующего анализа методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). В качестве биоматериала для выделения вкДНК используют плазму крови пациентов. Набор реагентов предназначен для диагностики *in vitro*.

Демографические и популяционные аспекты применения: без ограничений.

Область применения – клиническая лабораторная диагностика.

Требования к квалификации пользователей: только квалифицированный персонал, обученный методам молекулярной диагностики (врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник).

2 Характеристика набора

2.1 Варианты исполнения

«Набор реагентов для выделения внеклеточной ДНК из плазмы крови "Plasma DNA Extraction" по ТУ 20.59.52-005-57201404-2021» (далее по тексту – набор реагентов) представлен в двух вариантах исполнения:

- 1) Набор реагентов на 10 выделений "Plasma DNA Extraction (10)".
- 2) Набор реагентов на 50 выделений "Plasma DNA Extraction (50)".

2.2 Комплектность

В комплект поставки входят: набор реагентов (таблица 1), инструкция по применению, паспорт качества.

2.3 Состав набора реагентов

Таблица 1. Состав набора реагентов

№	Цвет крышки	Наименование реагента	Объём реагента	
			на 10 выделений	на 50 выделений
1	красная	Магнитные частицы MNA	60 мкл	270 мкл
2	бесцветная	Лизирующий буфер LB	11 мл	2*26 мл
3	бесцветная	Промывочный буфер WB1	6 мл	27 мл
4	бесцветная	Промывочный буфер WB2	12 мл	2*28 мл
5	зелёная	Элюирующий буфер EB	920 мкл	4.65 мл
6	синяя	Буфер Т	170 мкл	880 мкл

Магнитные частицы MNA – магнитные частицы для сорбции ДНК.

Лизирующий буфер LB – буферный раствор и детергент для лизиса белков и эффективного выделения ДНК.

Промывочный буфер WB1 – буферный раствор и детергент для отмывки ДНК на магнитных частицах.

Промывочный буфер WB2 – раствор для отмывки ДНК на магнитных частицах.

Элюирующий буфер EB – буферный раствор для элюции ДНК с магнитных частиц.

Буфер Т – буферный раствор для стабилизации pH растворов.

Набор реагентов не содержит биологических материалов человеческого и животного происхождения. Компоненты набора в рабочих концентрациях не токсичны, не обладают канцерогенным и мутагенным действием.

2.4 Количество выделений

Набор реагентов на 10 выделений "Plasma DNA Extraction (10)" содержит реактивы для выделения вкДНК из 10 образцов плазмы крови объёмом 5 мл каждый.

Набор реагентов на 50 выделений "Plasma DNA Extraction (50)" содержит реактивы для выделения вкДНК из 50 образцов плазмы крови объёмом 5 мл каждый.

2.5 Принцип действия набора

Для выделения вкДНК из плазмы крови используют сорбент, состоящий из магнитных частиц со специальным покрытием, и буферные растворы. Плазму крови обрабатывают лизирующим буфером для разрушения биополимерных комплексов.

Затем добавляют магнитные частицы, на поверхности которых происходит сорбция нуклеиновых кислот. После сорбции магнитные частицы концентрируют на дне пробирки с помощью магнитного штатива и промывают промывочными буферами. При промывке вкДНК остаётся связанной с магнитными частицами, а белки плазмы удаляются. При добавлении элюирующего буфера вкДНК переходит в раствор. Раствор вкДНК переносят в чистую пробирку и добавляют буфер Т.

В результате процедуры выделения получают препарат внеклеточной одноцепочечной ДНК, пригодный для дальнейших исследований методом ПЦР.

3 Функциональные характеристики

3.1 Эффективность выделения вкДНК

Эффективность выделения вкДНК определяли методом ПЦР в режиме реального времени с использованием зарегистрированного набора реагентов «Комплект реагентов для ПЦР-амплификации геномной ДНК человека в режиме реального времени (КВМ) по ТУ 9398-036-46482062-2009», РУ № ФСР 2010/08412 (ООО «ДНК-Технология ТС»). Концентрация вкДНК, выделенной из плазмы крови, достаточна для проведения ПЦР.

3.2 Чистота выделенной вкДНК

Оценку качества (чистоты) экстрагированной вкДНК проводили методом ПЦР в режиме реального времени с использованием зарегистрированного набора реагентов «Комплект реагентов для ПЦР-амплификации геномной ДНК человека в режиме реального времени (КВМ) по ТУ 9398-036-46482062-2009», РУ № ФСР 2010/08412 (ООО «ДНК-Технология ТС»). Чистота вкДНК, выделенной из плазмы крови, приемлема для проведения ПЦР.

3.3 Влияние интерферирующих веществ на выделение вкДНК

Интерферирующие вещества не влияют на результаты выделения вкДНК в следующих концентрациях: альбумин – 51 мг/мл, билирубин – 35,1 мкмоль/л, гемоглобин – 5 мг/мл, триглицериды – 34,23 ммоль/л, ЭДТА – 20 мг/мл.

3.4 Ограничения при применении

Для получения плазмы необходимо отбирать кровь в пробирки с раствором КЗ ЭДТА. Недопустимо использование гемолизированной крови. Необходимо хранить образцы крови при температуре 4°C и готовить плазму не позднее четырёх часов

после забора крови. Не допускается замораживание крови до получения плазмы. При получении плазмы не допускается её контаминация клетками крови.

В процессе транспортировки и хранения образцов биоматериала может происходить разрушение клеток крови, в результате чего ДНК клеток крови может контаминировать вкДНК плазмы. Рекомендации по приготовлению плазмы крови приведены в разделе 7. Подготовка образцов биоматериала.

Не рекомендуется определять концентрацию вкДНК методами спектроскопии и спектрофлуориметрии, поскольку это может привести к искажению показателей концентрации вкДНК, пригодной для ПЦР.

4 Риски, связанные с применением набора реагентов

Перечень опасных ситуаций, которые относятся к категории R2 «допустимый риск», зависят от человеческого фактора и не могут быть уменьшены производителем другим способом, кроме как добавлением соответствующей информации в инструкцию по применению.

1. Приготовление плазмы позднее, чем через четыре часа после забора крови, или после замораживания крови, ошибки при приготовлении плазмы, что приводит к контаминации плазмы лейкоцитами и, как следствие, контаминации вкДНК лейкоцитарной фракцией ДНК (возможный вред: недостаточное качество вкДНК для ПЦР).
2. Деградация магнитных частиц из-за нарушения условий хранения и/или транспортировки или при использовании набора реагентов после истечения срока годности (возможный вред: недостаточное количество вкДНК для ПЦР).
3. Персонал не встряхивает пробирку с магнитными частицами перед использованием (возможный вред: недостаточное качество вкДНК для ПЦР).

Совокупный остаточный риск является допустимым.

5 Меры предосторожности

1. Класс потенциального риска применения набора реагентов – 2а согласно Приказу МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н.
2. Набор реагентов предназначен для использования в лабораториях, соответствующих требованиям МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I – IV групп патогенности» и СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

3. Допускать к работе с набором реагентов только персонал, обученный правилам работы в клинко-диагностической лаборатории.
4. Применять набор реагентов строго по назначению, согласно настоящей инструкции. Не использовать набор реагентов для выделения ДНК из биологического материала, не предусмотренного назначением.
5. Выделение вкДНК следует проводить в боксе микробиологической безопасности класса II.
6. При работе с набором реагентов использовать лабораторную одежду и одноразовые медицинские перчатки. Тщательно вымыть руки по окончании работы.
7. Каждое рабочее место должно быть снабжено собственным набором дозаторов переменного объема, необходимыми вспомогательными материалами и оборудованием. Запрещается их перемещение между рабочими местами.
8. Использовать и менять после каждой операции одноразовые наконечники с фильтром для автоматических дозаторов. Использованные наконечники и пробирки сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующее средство для обеззараживания медицинских отходов.
9. Не использовать компоненты наборов реагентов из разных партий.
10. Не использовать набор реагентов по истечении срока годности, при нарушении условий транспортировки или хранения.
11. Буферы LB и WB1 содержат детергенты, буфер EB содержит щелочь, которые могут вызвать раздражение. Избегать попадания на кожу, в глаза и на слизистые оболочки. При контакте немедленно промыть большим количеством воды (не менее 15 минут), при необходимости обратиться за медицинской помощью.
12. Все поверхности в лаборатории (рабочие столы, штативы, оборудование и др.) ежедневно следует подвергать влажной уборке с применением дезинфицирующих средств, регламентированных санитарными правилами СанПиН 3.3686-21.
13. Все рабочие зоны следует подвергать ежедневному обеззараживанию ультрафиолетовым излучением в соответствии с Р 3.5.1.4025-24 «Дезинфектология. Использование ультрафиолетового бактерицидного излучения для обеззараживания воздуха в помещениях. Руководство».
14. Паспорта безопасности материалов (MSDS – material safety data sheet) доступны по запросу.

6 Оборудование и материалы

6.1 Оборудование, необходимое для работы с набором реагентов

Аспиратор с сосудом-ловушкой FTA-1 (ПУ № ФСЗ 2011/09791, ООО «Биосан», Латвия).

Бокс микробиологической безопасности БМБ-II-«Ламинар-С» по ТУ 32.50.50-010-51495026-2020 в исполнении: БМБ-II-«Ламинар-С»-1,2 (NEOTERIC) (ПУ № ФСР 2012/13259, ЗАО «Ламинарные системы», Россия).

Вортекс, например, вортекс персональный V-1 plus (ПУ № ФСЗ 2011/09797, ООО «Биосан», Латвия).

Дозаторы переменного объема, например, дозаторы пипеточные, одно- и многоканальные, «Блэк» по ТУ 9443-008-33189998-2009 (ПУ № ФСР 2009/05681, АО «Термо Фишер Сайентифик», Россия).

Мини-ротатор для пробирок диаметром 10-16 мм (1,5 мл, 2 мл, 5 мл), например, Мини-ротатор Bio RS-24 со стандартной платформой PRS-22, с принадлежностями (ПУ № ФСЗ 2011/09794, ООО «Биосан», Латвия).

Термостат твердотельный, например, термостат типа «Драй-блок» TDB-120, вариант исполнения: I. Термостат TDB-120 с крышкой и термоблоком А-53 (ПУ № РЗН 2018/7729, ООО «Биосан», Латвия).

Холодильник бытовой с холодильной (от 2°C до 8°C) и морозильной камерами (от минус 18°C до минус 25°C) (например, ATLANT XM-6023-031 «ATLANT», Белоруссия).

Центрифуга с возможностью регулирования силы торможения, например, центрифуга медицинская лабораторная LMC-3000 с принадлежностями: ротор R-2, ротор R-6, ротор R-12/10, ротор R-12/15 (ПУ № ФСЗ 2008/01792, ООО «Биосан», Латвия).

6.2 Материалы, необходимые для работы с набором реагентов

Контейнер для сброса отходов («КМ-ПРОЕКТ», Россия).

Наконечники универсальные, например, наконечники универсальные пластиковые в штативах и без штативов для лабораторных дозаторов и роботизированных систем. 3. Наконечники универсальные для дозаторов с фильтром объемом от 0,1 мкл до 1000 мкл (ПУ № ФСЗ 2012/12077, «Эксиджен, Инк.», США).

Перчатки медицинские, например, перчатки медицинские диагностические (смотровые) и хирургические одноразовые "Benovy" стерильные и нестерильные. Перчатки нитриловые неопудренные нестерильные смотровые, цвета: бирюзовый,

синий, белый, голубой, сиреневый, зеленый, размеры: XS, S, M, L, XL (вид 185830) (РУ № ФСЗ 2012/12488, «ТГ Медикал Сдн. Бхд.», Малайзия).

Пробирки, например, изделия медицинские полимерные для лабораторных исследований *in vitro*. 13. Микроцентрифужные пробирки градуированные объемом от 0,6 мл до 2,0 мл. 25. Пробирки с винтовой горловинной крышкой объемом от 5 мл до 50 мл. (РУ № ФСЗ 2012/11892, «Эксиджен, Инк.», США).

Штатив, например, изделия медицинские полимерные для лабораторных исследований *in vitro*. 20. Штатив для пробирок, 80 ячеек. 22. Штатив для пробирок, 96 ячеек. (РУ № ФСЗ 2012/11892, «Эксиджен, Инк.», США).

Штатив магнитный, например, штатив лабораторный по ТУ 32.50.50-005-01813981-2020, вариант исполнения: 1. Магнитный штатив для работы с пробирками объемом 1,5/2,0; 5,0; 15,0 и 50,0 мл (РУ № РЗН 2022/16856, ООО «Компания Совтех», Россия).

7 Подготовка образцов биоматериала

1. Исследуемый биоматериал – плазма крови человека, необходимый объём – 5 мл.
2. Кровь забрать в три вакутейнера объёмом 8-10 мл с раствором КЗ ЭДТА, например, пробирки Improvacuter с КЗ ЭДТА объёмом 9 мл («Гуанчжоу Импрув Медикал Инструментс Ко., Лтд», Китай). При заборе следить, чтобы каждая пробирка полностью заполнилась кровью. Немедленно после забора перемешать, переворачивая пробирку с кровью 8-10 раз.

ВНИМАНИЕ! Хранить до приготовления плазмы в холодильнике при температуре 4°C, не замораживать. Не позднее 4 часов после забора крови приготовить плазму.

3. Центрифугировать пробирки с кровью в течение 10 мин при 1500g при температуре от 4°C до 30°C. Кровь должнаделиться на три слоя: плазма сверху, эритроциты внизу, белая прослойка лейкоцитов между плазмой и эритроцитами. **ВНИМАНИЕ!** Перед центрифугированием отключить тормоз центрифуги, чтобы лейкоциты не взбалтывались при торможении.

4. Собрать плазму в пробирку объёмом 15 мл с коническим дном, не захватывая лейкоциты. **ВНИМАНИЕ!** Оставить над лейкоцитами слой плазмы толщиной 5 мм, чтобы не контаминировать плазму клетками!

5. Центрифугировать пробирки с плазмой в течение 10 мин при 1500g при температуре от 4°C до 30°C. **ВНИМАНИЕ!** Перед центрифугированием отключить тормоз центрифуги, чтобы лейкоциты не взбалтывались при торможении. После центрифугирования в пробирках может наблюдаться небольшой белый или белорозовый осадок клеток. Собрать чистую плазму в новые пробирки объёмом 5 мл, не

захватывая осадок. **ВНИМАНИЕ!** Оставить над осадком слой плазмы толщиной 5-10 мм, чтобы не контаминировать плазму клетками!

6. Плазму до выделения вкДНК хранить при температуре 4°C до 24 часов, при температуре от минус 15°C до минус 25°C до 30 дней или при температуре минус 70°C до 12 месяцев.

8 Протокол выделения вкДНК из плазмы крови

Схема выделения ДНК представлена в приложении А.

Выделение ДНК проводится из 5 мл плазмы. Протокол выделения можно модифицировать в случае, когда клинического материала недостаточно (таблица 2).

Таблица 2. Объёмы реагентов в зависимости от объёма плазмы крови

Объём плазмы	Объём буфера LB	Объём частиц MNA	Объём буфера WB1	Объём буфера WB2	Объём буфера EB	Объём буфера T
2 мл	400 мкл	5 мкл	500 мкл	две промывки по 500 мкл	84 мкл, для более высокой концентрации ДНК 42 мкл	16 мкл, для более высокой концентрации ДНК 8 мкл
3 мл	600 мкл					
4 мл	800 мкл					
5 мл	1000 мкл					

- Внести по **5 мл** плазмы крови в пробирки объёмом 5 мл.
- Добавить к каждому образцу **1 мл** лизирующего буфера **LB**. Тщательно перемешать, переворачивая пробирку 5-10 раз.

- Инкубировать 20 минут при комнатной температуре.

ВНИМАНИЕ! Перед работой пробирку с магнитными частицами MNA необходимо тщательно встряхнуть на вортексе импульсами 10 раз по 5-10 сек.

- Добавить к образцам по **5 мкл** суспензии магнитных частиц. Тщательно перемешать, переворачивая пробирку 5-10 раз.

- Вращать 10 минут при комнатной температуре на мини-ротаторе на максимальной скорости.

- Поместить пробирки в магнитный штатив. Инкубировать 2 минуты, убедиться, что частицы собрались на стенках пробирок. Аккуратно, не захватывая частицы, полностью удалить супернатант.

ВНИМАНИЕ! Удалять супернатант здесь и далее с использованием аспиратора или автоматической пипетки.

- Внести в пробирки по **500 мкл** промывочного буфера **WB1**. Пробирки тщательно встряхнуть и перенести суспензию в чистые промаркированные пробирки объёмом 1,5 мл. Тщательно перемешать на вортексе импульсами 5 раз по 5-10 сек.

8. Поместить пробирки в магнитный штатив, инкубировать 2 минуты. Удалить супернатант, не вынимая пробирки из штатива.
9. Внести в пробирки по **500 мкл** промывочного буфера **WB2**. Тщательно перемешать на вортексе импульсами 5 раз по 5-10 сек.
10. Поместить пробирки в магнитный штатив, инкубировать 2 минуты. Удалить супернатант, не вынимая пробирки из штатива.
11. Повторить промывку буфером **WB2** в соответствии с п. 9-10.
12. После удаления супернатанта добавить 84 мкл элюирующего буфера **EB***. Тщательно перемешать.
13. Инкубировать в термостате при температуре 80°C в течение 5 минут.
14. Поместить пробирку в магнитный штатив. Инкубировать 2 минуты, чтобы магнитные частицы собрались на стенках пробирок. Отобрать и перенести элюат в чистые, промаркированные пробирки объемом 1,5 мл, не захватывая сорбент. Добавить к элюату **16 мкл** буфера **T**. Хранить полученные образцы вкДНК при температуре минус 20°C в течение недели, либо немедленно перейти к процедуре постановки ПЦР.

*Примечание: для получения образца более высокой концентрации элюировать в **42 мкл** буфера **EB**, а затем добавить **8 мкл** буфера **T**.

9 Условия хранения, транспортирования и эксплуатации

9.1 Условия хранения

- 9.1.1 Хранить набор реагентов при температуре от 2°C до 8°C в течение всего срока годности в холодильниках, которые обеспечивают регламентированный температурный режим, не допуская проникновения света.
- 9.1.2 Не подвергать набор реагентов замораживанию.
- 9.1.3 Срок годности – 1 год со дня выпуска, 1 год после первого вскрытия упаковки набора реагентов.

9.2 Условия транспортирования

- 9.2.1 Транспортировать набор реагентов следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре от 2°C до 25°C. Не подвергать замораживанию. Допустимо транспортирование в термоконтейнерах с хладоэлементами для сохранения температуры от 2°C до 8°C (ХТЛ-3, ООО «Термологика» или аналогичные).

9.2.2 При транспортировании необходимо соблюдать условия, обеспечивающие сохранность набора реагентов от механического повреждения, неблагоприятного воздействия температуры окружающей среды.

9.3 Условия эксплуатации

9.3.1 Использовать набор реагентов при комнатной температуре (от 18°C до 25°C).

9.3.2 Не использовать набор реагентов после истечения срока годности.

9.4 Условия утилизации

9.4.1 Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, а также использованные реагенты, биологический материал и упаковку подвергать обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией согласно СанПиН 2.1.3684-21.

10 Гарантийные обязательства

10.1 Гарантии производителя

Производитель гарантирует соответствие качества набора реагентов требованиям нормативной и технической документации при соблюдении условий хранения, транспортирования и применения. Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

10.2 Рекламации

Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действий третьих лиц, либо обстоятельств непреодолимой силы.

Рекламации следует направлять в письменном виде производителю ООО «БиоЛинк».

Адрес:	630090, г. Новосибирск, ул. Николаева, д. 13
Телефон:	+7 (383) 209-32-40
Электронная почта:	info@biolinklab.ru
Веб-сайт:	biolinklab.ru

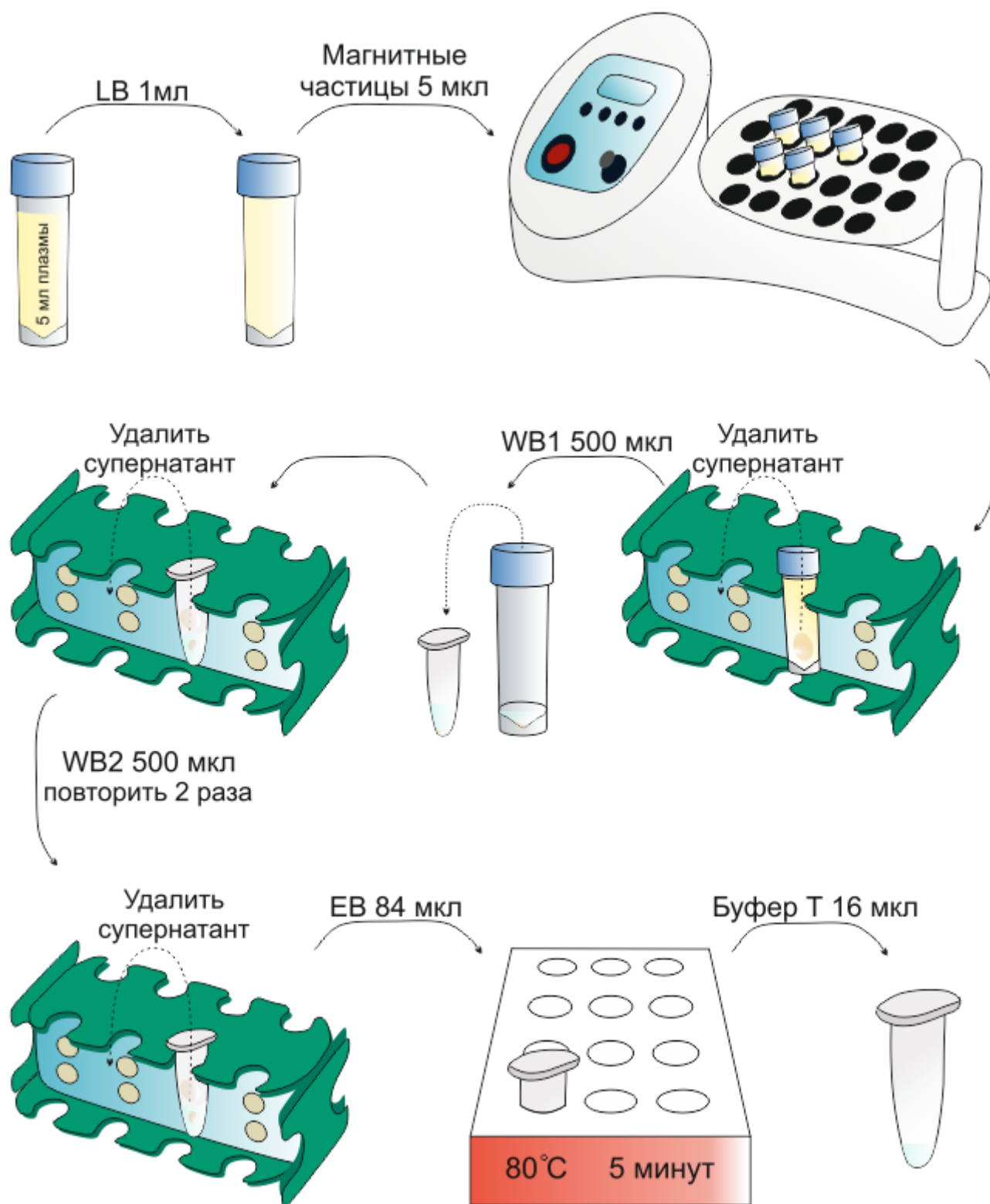
11 Маркировка

Маркировка потребительской упаковки содержит следующие графические символы.

	Содержимого достаточно для выделения вкДНК из указанного количества образцов биоматериала		Номер по каталогу
	Температурный диапазон (условия хранения и транспортирования)		Номер партии
	Обратитесь к инструкции по применению		Дата изготовления (месяц, год)
	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>		Использовать до (месяц, год)
			Изготовитель

Приложение А (рекомендуемое)

Схема выделения вкДНК



Библиография

1. Cell-free circulating tumor DNA in cancer. / Z. Qin, V. A. Ljubimov, C. Zhou, et al. // Chin J Cancer. – 2016. – V. 35:36. – P. 1-9. – DOI: 10.1186/s40880-016-0092-4
2. Liquid biopsy: monitoring cancer-genetics in the blood. / E. Crowley, F. Di Nicolantonio, F. Loupakis, A. Bardelli // Nature Reviews Clinical Oncology. – 2013. – Vol. 10. – P. 472–484. – DOI: 10.1038/nrclinonc.2013.110

Производитель: ООО «БиоЛинк»

Адрес: 630090, г. Новосибирск, ул. Николаева, д. 13

Телефон: (383) 209-32-40

E-mail: info@biolinklab.ru

Веб-сайт: biolinklab.ru